

RESUMO

A gravidez humana normal associa modificações sanguíneas fisiológicas, nomeadamente, leucocitose neutrofilica, hiperlipidemia e um estado hipercoagulante, hipofibrinolítico, e inflamatório. A PE tem sido associada a uma exacerbação destas modificações e a alterações na placenta, que podem condicionar a perfusão placentária e, portanto, as transferências materno-fetais. Existem estudos na literatura sobre estas modificações na circulação materna, mas são poucos os estudos feitos no sangue do cordão umbilical do recém-nascido.

O objectivo deste trabalho foi proceder a uma análise de modificações na mãe e no recém-nascido, na gravidez normal e na gravidez PEc e, ainda, avaliar uma potencial relação entre essas modificações.

A população estudada incluiu 42 grávidas normotensas, 46 grávidas com diagnóstico de PE (segundo a classificação da Sociedade Internacional para o Estudo da hipertensão na Gravidez), assim como os seus recém-nascidos. Do grupo controlo foram excluídas as grávidas com patologias associadas à gravidez e com anomalias fetais. O estudo clínico e analítico das grávidas foi feito antes do parto e o dos recém-nascidos (sangue do cordão umbilical), destas mães, imediatamente após o parto. Os resultados foram analisados com o objectivo de avaliar as diferenças entre os grupos de grávidas – normais e PEc - e entre os filhos de grávidas - controlos e de grávidas com PE. Foram também comparados os resultados apresentados pelas mães e filhos, no caso de gravidez normal e de gravidez PEc.

O estudo analítico incluiu a avaliação do perfil lipídico – colesterol total, triglicédeos (TG), HDLc (colesterol das lipoproteínas de elevada densidade), LDLc (colesterol das lipoproteínas de baixa densidade), apolipoproteínas A-I e B, lipoproteína (a); variáveis relacionadas com a fibrinólise – activador do plasminogénio tecidual (tPA), inibidor do activador do plasminogénio do tipo 1 (PAI-1), D-dímeros; variáveis relacionadas com inflamação e activação leucocitária - proteína C reactiva, α_1 -antitripsina, interleucina-6, factor de necrose tumoral- α , contagem total e diferencial de leucócitos, produtos de activação leucocitária (elastase e lactoferrina), molécula de adesão vascular na sua forma solúvel (sVCAM), molécula de adesão plaquetar na sua forma solúvel (sPECAM), L-selectina na sua forma solúvel; marcadores de stress oxidativo – capacidade antioxidante total, substâncias reactivas com o ácido

tiobarbitúrico (TBARS), ácido úrico; factores de angiogénese – factor de crescimento da placenta (PIGF), factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e o receptor solúvel do VEGF do tipo 1 (sVEGFR-1); estudo do hemograma e de variáveis associadas com lesão/remoção/produção de eritrócitos - hemoglobina ligada à membrana (HbLM), perfil da banda 3 / bilirrubina e reticulócitos / índice de produção reticulocitária (IPR), respectivamente.

No presente estudo, observou-se um distúrbio dos factores angiogénicos/anti-angiogénicos na circulação materna, na PE. Esta perturbação parece estar associada a disfunção placentária, uma vez que na gravidez os factores de angiogénese são produzidos essencialmente pela placenta. A reforçar a existência desta disfunção, observou-se uma correlação positiva e significativa entre o peso do recém-nascido e o peso da placenta, apresentando ambos valores significativamente mais baixos nos casos de PE. O estudo hemostático evidenciou um aumento do tPA e do PAI-1, sem alterações nos D-dímeros, sugerindo uma disfunção endotelial, nesta síndrome, e não um processo de coagulação exacerbado. A (dis)função endotelial materna, parece estar relacionada com a (dis)função placentária, considerando a correlação positiva observada entre o tPA e o sVEGFR-1, na gravidez normal e PEc. Verificámos, ainda, que as gestantes PEc apresentam um perfil lipídico pró-aterogénico, quando comparadas com as grávidas normotensas. A modificação lipídica mais acentuada, foi observada nos TG, que duplicavam o seu valor na PE, relativamente à gravidez normal. A proteinúria correlacionou-se com o PAI-1 e tPA (marcadores da função endotelial), com o sVEGFR-1 (indicador de disfunção placentária) e com os TG, sugerindo a importância da tríade disfunção placentária/disfunção endotelial/hipertrigliceridemia, na patogénese da PE. Na gravidez PEc observou-se um desenvolvimento de stress oxidativo e um processo inflamatório exacerbado. Embora não se tenha observado na PE, um aumento dos produtos de desgranulação do neutrófilo, observaram-se modificações na sL-selectina e na sVCAM, importantes na interacção leucócitos/endotélio; a sPECAM era semelhante nos grupos de estudo, sugerindo que a transmigração parece ser reduzida. Não devemos também excluir a possibilidade de o aumento dos níveis de sVCAM na PE resultarem da disfunção da célula endotelial e não da interacção entre leucócitos/endotélio. Na PE observou-se um estímulo eritropoiético, que pode ter surgido em resposta a uma remoção acelerada de eritrócitos envelhecidos/lesados, como sugerem as lesões oxidativas na membrana eritrocitária, o aumento dos níveis de bilirrubina e o IPR.

Tal como se observou na circulação materna, na PE, no sangue do cordão umbilical, foram também observados distúrbios nos factores de angiogénese, modificações no perfil lipídico e nos marcadores de (dis)função endotelial/fibrinólise. Parece também existir uma relação entre a disfunção placentária e a disfunção endotelial na circulação fetal,

observada na PE, como sugere a correlação positiva observada entre os níveis de tPA e de sVEGFR-1 do sangue do cordão umbilical. A acentuada resposta inflamatória na circulação materna, em caso de PE, observou-se também a nível do sangue do cordão umbilical. Apesar de não ter sido evidente, o desenvolvimento de stress oxidativo a nível sanguíneo, os estudos efectuados em eritrócitos evidenciaram modificações oxidativas a nível da membrana. Observaram-se também evidências de estimulação eritropoiética.

A disfunção placentária, associada a hipoxia/reoxigenação da placenta, na PE, parecem desencadear na circulação materna uma disfunção endotelial. Para esta podem contribuir a hipertrigliceridemia, stress oxidativo e a exacerbação do processo inflamatório. A disfunção placentária associada às modificações observadas no sangue materno, parece condicionar a transferência de oxigénio e de nutrientes e, eventualmente, a libertação anormal de produtos sintetizados pela placenta, para a circulação fetal; estas alterações parecem desencadear no feto uma resposta de adaptação, com desenvolvimento de disfunção endotelial, dislipidemia e resposta inflamatória, semelhante à que ocorre na mãe, embora menos intensa. A redução de transferência de oxigénio para o feto, associada a stress oxidativo, determina lesões oxidativas nos eritrócitos e um estímulo eritropoiético.

Em suma, a maioria das modificações observadas na circulação materna na PE, estão também presentes no sangue do cordão umbilical do recém-nascido, embora essas alterações sejam menos acentuadas.

ABSTRACT

Normal human pregnancy is associated with blood physiological changes, namely, neutrophilic leukocytosis, hyperlipidemia and a procoagulant, hypofibrinolytic and inflammatory conditions. Preeclampsia (PE) has been associated with an enhancement in these changes and with placental abnormalities, that may condition its perfusion and, therefore, maternal-fetal transfer. There are several studies in literature about these changes in maternal circulation, but few studies about umbilical cord blood (UCB) changes in the neonate.

The aim of this work was to perform a analysis of the maternal and neonatal blood changes, in normal and preeclamptic (PEc) pregnancies, and to evaluate also a potential relationship between those changes.

The studied population included 42 normotensive pregnant women, 46 pregnant women with diagnosed PE (according to the classification of the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy), and their neonates. Pregnant women with pregnancy associated pathologies and fetal abnormalities, were excluded from the study. The clinical and analytical studies were performed immediately before the delivery for the pregnant women, and immediately after birth for their neonates. The results were analyzed in order to evaluate differences between normal and PEc pregnant women and between their neonates. The results presented by mothers and sons were also compared, for normal and PEc cases.

The analytical study included the evaluation of the lipid profile – total cholesterol, tryglicerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDLc), low density lipoprotein cholesterol (LDLc), apolipoproteins A-I and B, lipoprotein (a); hemostatic and fibrinolysis markers – tissue plasminogen activator (tPA), inhibitor of the tissue plasminogen activator type 1 (PAI-1), D-dimers; markers of inflammation and leukocyte activation – C reactive protein (CRP), α 1-antitrypsin, interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α , total and differential leukocyte count, products of leukocyte activation (elastase and lactoferrin), vascular cell adhesion molecule in its soluble form (sVCAM), platelet endothelial cell adhesion molecule in its soluble form (sPECAM), L-selectin in its soluble form; markers of oxidative stress – total antioxidant status (TAS), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), uric acid; angiogenic factors – placental growth factor (PlGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and the receptor of the vascular

endothelial growth factor type 1 in its soluble form (sRVEGF-1); basic hematological study and markers of erythrocyte lesion/removal/production – membrane bound hemoglobin and band 3 profile / bilirubin / reticulocyte count and reticulocyte production index (IPR), respectively.

In the present study a disturbance in the angiogenic/antiangiogenic factors was observed in maternal circulation, in PE. This disturbance seems to be associated with placental dysfunction, as the angiogenic factors are mainly produced by the placenta. Strengthening the existence of this dysfunction, a positive and significant correlation was observed between the weight of the newborn and the weight of the placenta, presenting both significantly lower values in PE. The hemostatic study showed a rise for tPA and for PAI-1, and similar values for D-dimers, suggesting an endothelial dysfunction in PE, instead of an enhanced coagulation condition. The maternal endothelial (dys)function, seems to be related to the placental (dys)function, considering the observed positive correlation between tPA and sVEGFR-1, in normal and PEc pregnancies. We found that PEc pregnant women presented a pro-atherogenic lipid profile, when compared with normal pregnant women. The most striking lipid change was observed for TG that doubled its value in PE, as compared to normal pregnancy. Proteinuria was correlated with PAI-1 and tPA (markers of endothelial function), with sVEGFR-1 (marker of placental dysfunction) and with TG, suggesting the importance of the triad placental dysfunction/endothelial dysfunction/hypertriglyceridemia in the pathogenesis of PE. In PE, we observed the development of oxidative stress and of an enhanced inflammatory process. We did not observe, in PE, a rise in degranulation products of the neutrophil, however we found changes in sL-selectin and in sVCAM, that are known to be important in leukocyte/endothelial interactions; sPECAM was similar for both groups under study, suggesting that transmigration might be reduced. We should not exclude the hypothesis that the rise of sVCAM, in PE, might also result from endothelial dysfunction, and not involved in the endothelial/leukocyte interaction mechanisms. In PE, we also observed an erythropoietic stimulus that was probably triggered to overcome the enhanced removal of old or damaged erythrocytes, as suggest the oxidative lesions in the erythrocyte membranes, the rise in bilirubin and in IPR.

As observed in maternal circulation, we found also in UCB from PE cases, disturbances in angiogenic factors, in the lipid profile and in the markers of endothelial/placental (dys)function. It seems to exist also in PEc cases a relation between placental and endothelial dysfunction in fetal circulation, as suggest the observed correlation between the levels of tPA and sVEGFR-1 in UCB. The enhanced inflammatory response in maternal circulation, in PE, was also observed in UCB from PEc cases. Though the development of oxidative stress was not evident at plasma level, the

erythrocyte studies showed oxidative modifications in their membranes. Evidences of an erythropoietic stimulus were also found.

Placental dysfunction associated with hypoxia/placental reoxygenation, in PE, seems to trigger an endothelial dysfunction in maternal circulation. Hypertriglyceridemia, oxidative stress and the enhanced inflammatory process may contribute to the development of that dysfunction. Placental dysfunction associated to maternal blood changes, may compromise the transfer of oxygen and nutrients and, eventually, and an abnormal release of products synthesized by the placenta into fetal circulation; these changes may trigger in the fetus an adaptive response, with development of endothelial dysfunction, dyslipidemia and an inflammatory response similar to that occurring in the mother, however with a lower grade of intensity. The reduction in oxygen transfer to fetus and the oxidative stress induces oxidative lesions in the erythrocytes and the stimulation of erythropoiesis.

In summary, most of the changes observed in maternal circulation, in PE, were also present in the umbilical cord blood of the newborn, although the changes were less striking.